



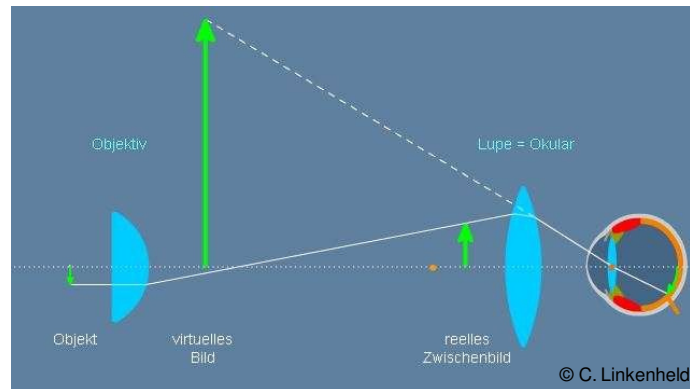
Mikroskopie I

Tag 1

Mikroskopieren im Hellfeld



© C. Linkenheld



© C. Linkenheld



© H. Petry-Hansen



Hellfeld-Mikroskopie: Für **kontrastreiche** Präparate

Objekte werden im Durchlichtverfahren auf hellem Grund sichtbar gemacht

Lernziele

- Bedienung des Lichtmikroskops
- Theoretische Grundlagen der Lichtmikroskopie

Lichtmikroskop: Linsensysteme

Okulare

Nachvergrößerung des Zwischenbildes

Erzeugung einer vergrößerten
Abbildung des Objekts
→ sog. **Zwischenbild**

Objektive

Kondensor

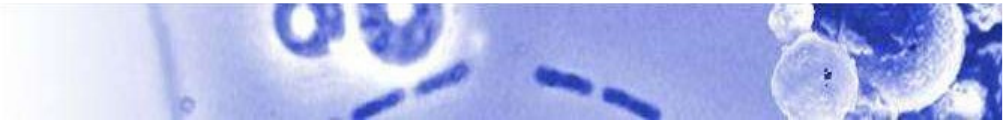
mit Kondensorblende
(= Aperturblende,
zur Optimierung
des Kontrastes)

Leuchtfeld-
blende

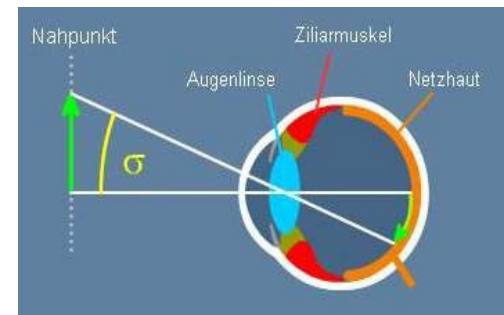
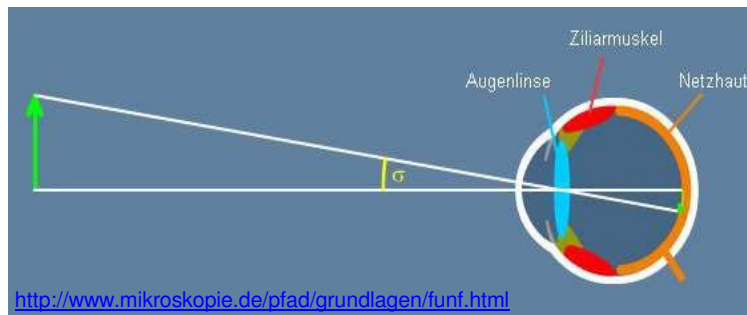
Abbildung des Lichts der
Projektionslampe
in die **Öffnung des Objektivs**
(Apertur (Öffnungsweite) des Objektivs ganz mit
Licht zu füllen → größtmöglich Auflösung)

Einschränkung des beleuchteten
Bereichs

Das menschliche Auge



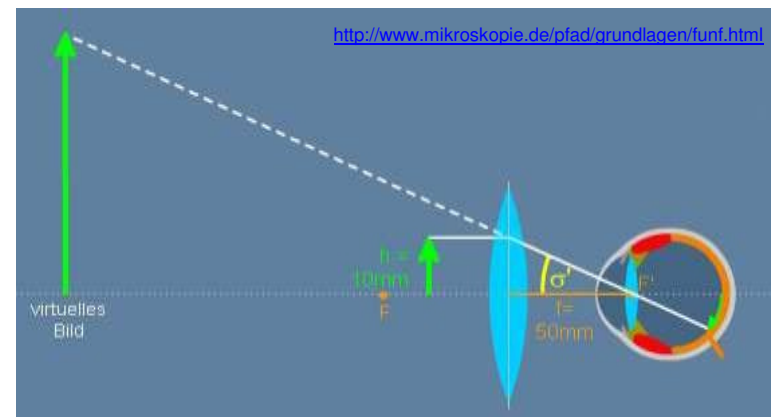
Die **relative Größe** mit der wir die Dinge sehen hängt davon ab, wie groß deren **Bild auf der Netzhaut** des Auges erscheint.



- Das **Netzhautbild wächst mit zunehmendem Sehwinkel**
- **Nahpunkt**: Punkt, an dem ein Objekt unter **größtmöglichem Sehwinkel** noch scharf wahrgenommen werden kann

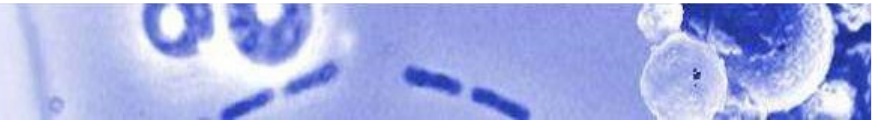


Lupe: Einfachstes optisches Instrument, welches zu einer **Vergrößerung** führt

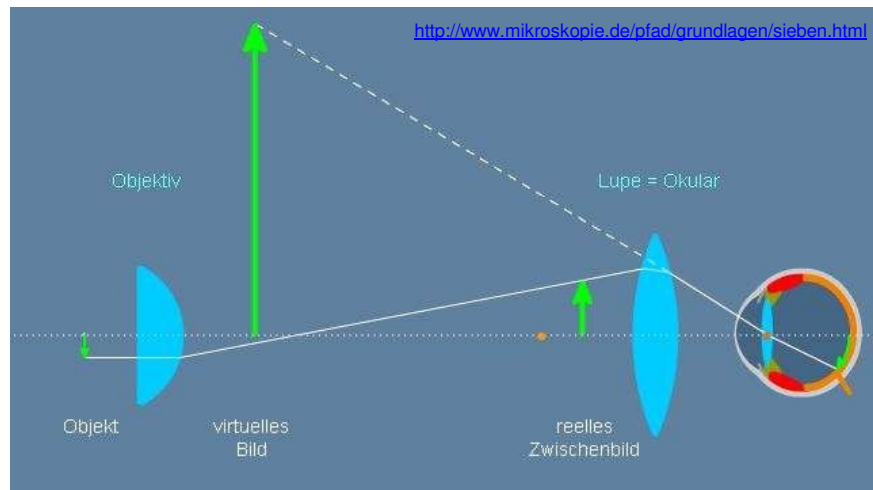


→ Beim Gebrauch einer Lupe wird der **Sehwinkel vergrößert**

Zusammengesetztes Mikroskop



Stärkere Vergrößerung: Hintereinandergeschaltete Linsensysteme → **Objektiv** und **Okular**



Maßstabszahl des Objektivs:
Größenverhältnis in welchem
eine bestimmte Strecke im
Zwischenbild zur
entsprechenden Strecke im
Präparat steht (z.B. 40:1)

Gesamtvergrößerung = **Maßstabszahl** Objektiv x **Lupenvergrößerung** Okular

Auflösung in der Mikroskopie



Eigenschaften und Qualität des mikroskopischen Bildes vor allem bestimmt durch **Vergrößerung, Auflösung, Kontrast**

Abstand d , den **zwei Strukturen** im Präparat mindestens haben müssen, um noch als **getrennte Strukturen** wahrgenommen werden zu können

Abhängig von

- der **Wellenlänge** λ des verwendeten Lichts
- den **numerischen Aperturen** A des Objektivs und des Kondensors

$$d = \frac{\lambda}{A_{\text{Obj}} + A_{\text{Kond}}} \quad A_{\text{Obj}} = A_{\text{Kond}}$$

$$d = \frac{\lambda}{2A}$$

Numerische Apertur

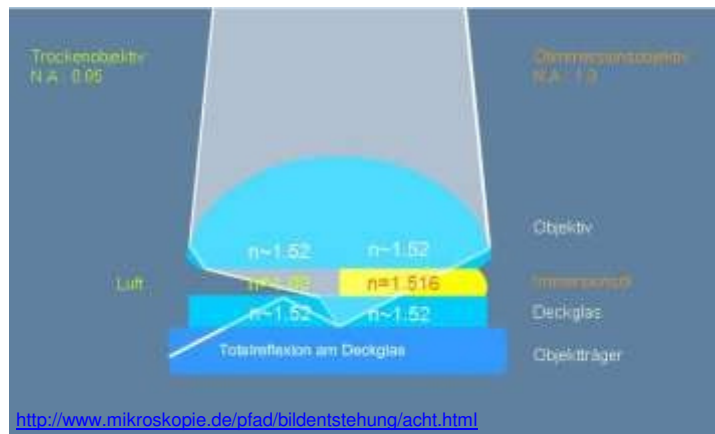


Die **numerische Apertur** (Formelzeichen A, NA oder n.A.) beschreibt das Vermögen eines optischen Elements, **Licht** zu **fokussieren**.

$$A = n \sin \sigma$$

Abhängig vom

- **Brechungsindex** n des Mediums zwischen Präparatoberfläche und Objektivfrontlinse
- **Öffnungswinkel** 2σ des Objektivs



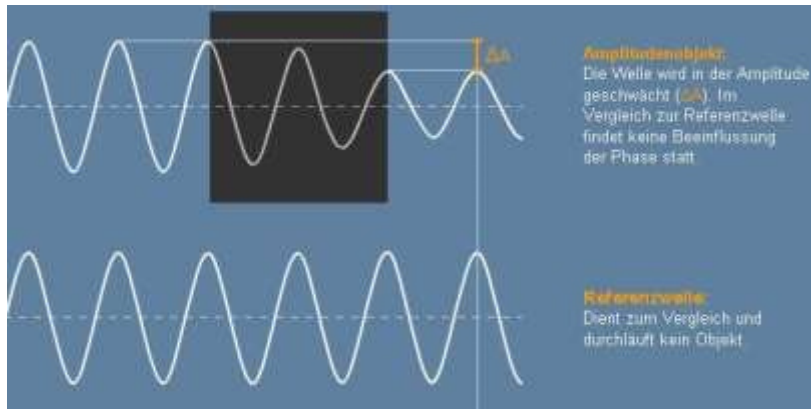
<http://www.mikroskopie.de/pfad/bildentstehung/acht.html>



<http://www.mikroskopie.de/kurse/apertur.htm>

Kontrastreiche Präparate

Ein mikroskopisches Objekt ist nur dann sichtbar, wenn es genügend **Kontrast** (Unterschied zwischen hellen und dunklen Bereichen des Bildes) besitzt.



Amplitudenobjekte:

- Das **Licht** wird **beim Durchdringen** des Objektes mehr oder weniger stark **absorbiert**, d.h. seine Amplitude verkleinert sich
- Das Auge nimmt dies als **verminderte Helligkeit** wahr oder als **Färbung** (wenn die spektralen Anteile des Lichts unterschiedlich stark absorbiert werden)

Teichwasser:
z.B. Grünalgen

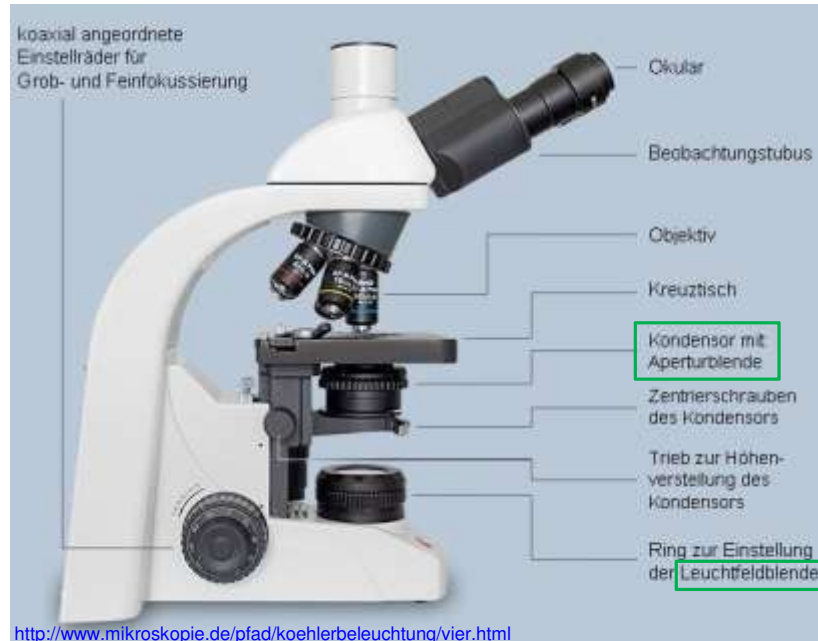
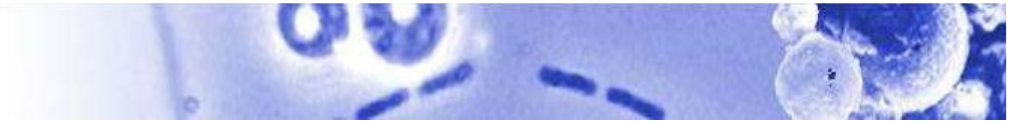


Pediastrum (Zackenrädchen)



Scenedesmus (Gürtelalge)

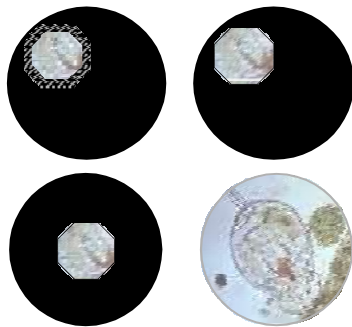
Köhlersche Beleuchtung



Lichtführung dahingehend optimiert, dass

- das **Präparat optimal** und weitgehend homogen **ausgeleuchtet** wird
- die Entstehung von **Streulicht** weitgehend **unterbunden** wird

1. Lichtquelle einschalten, Leuchtfeldblende öffnen und Kondensor bis zum Anschlag heben
2. Präparat fokussieren (10x Objektiv)
3. Leuchtfeldblende schließen



4. Kondensor in der Höhe verstellen bis der Rand der Leuchtfeldblende scharf abgebildet wird
(Zentrieren des Bildes (bei manchen Mikroskopen))
5. Leuchtfeldblende öffnen bis sie gerade aus dem Sehfeld verschwindet

Kursmikroskop

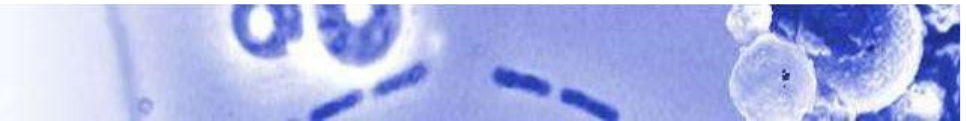


Höhenregulierung des
Objekttischs zur **Fokussierung**
(Grob- und Feintrieb)

Höhenregulierung des
Kondensors

Koaxialtrieb zur
Präparatverschiebung

Mikroskopieren – Erste Schritte



- Objektträger einspannen
- Mit **10x Objektiv** fokussieren
- Präparat **durchmustern**



Interessantes **Objekt**
gefunden

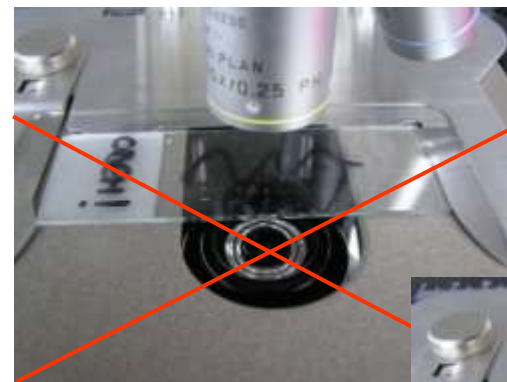
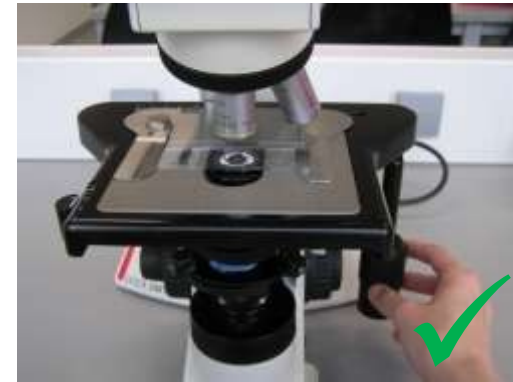
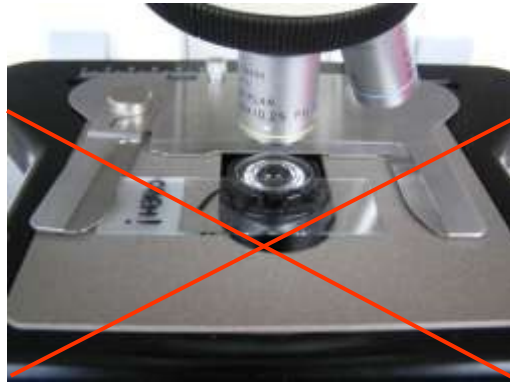
→ **40x** Objektiv einschwenken,
leicht nachfokussieren
→ **zeichnen!**



100x Objektiv =
Ölimmersionsobjektiv

Öl auf dem Präparat: Mikroskopieren mit **10x**
und **40x** Objektiv **nicht** mehr möglich!!!

Mikroskopieren – Dos and Don'ts



Das Mikroskop nie mit Handschuhen anfassen!



Bast, E. (2001): Mikrobiologische Methoden. Eine Einführung in grundlegende Arbeitstechniken. 2. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg.
→ Kapitel 8 **Lichtmikroskopische Untersuchung von Mikroorganismen**

<http://www.mikroskopie.de/pfad/>

<http://www.mikroskopie.de/kurse/>

Streble, H., Krauter, D. (2006): Das Leben im Wassertropfen. Mikroflora und Mikrofauna des Süßwassers. Ein Bestimmungsbuch. 10. Aufl., Franckh-Kosmos Verlags-GmbH & Co. KG, Stuttgart.